

Ge 23409 (2)

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. November 2001 (01.11.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/81619 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12Q 1/68

[DE/DE]; Mittelstedter Weg 37, 61348 Bad Homburg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/01025

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AT, AU, BR, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR, LT, LU, MA, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SE, TR, TT, TZ, US, VN, ZA.

(22) Internationales Anmeldedatum:
17. März 2001 (17.03.2001)

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

Veröffentlicht:

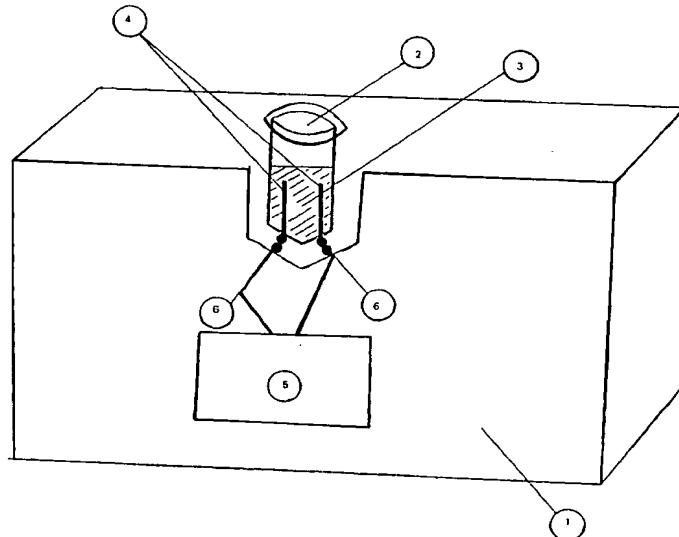
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: CONDUCTIVITY PCR

(54) Bezeichnung: KONDUKTIVITÄTS-PCR (LEITFÄHIGKEITS-PCR)



WO 01/81619 A2

(57) Abstract: The activity of individual genes is an important subject of analysis in molecular biology. Often, a PCR (polymerase chain reaction) or an RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction) is carried out in order to determine the activity of individual genes. However, a complication associated with this is that the PCR is difficult to quantify. The invention is based on the concept of using the change in conductivity to be measured during the PCR as a marker for the progression of the PCR and for the quantification of the starting quantity of DNA. This apparatus determines the changes in conductivity "online" during the course of a PCR by means of small microelectrodes which are immersed in the PCR solution. Using this parameter, the apparatus is able to calculate the quantity of DNA or RNA before the conclusion of the PCR.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("*Guidance Notes on Codes and Abbreviations*") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Eine in der Molekularbiologie wichtige Fragestellung ist die nach der Aktivität einzelner Gene. Um einzelne Gene in ihrer Aktivität zu bestimmen, wird häufig eine PCR (Polymerasekettenreaktion) oder eine RT-PCR (reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion) durchgeführt. Eine Schwierigkeit besteht darin, daß die PCR-Reaktion nur schwierig quantifizierbar ist. Dieser Erfüllung liegt die Überlegung zugrunde die bei Ablauf der PCR-Reaktion zu messende Leitfähigkeitsänderung als Marker für den Verlauf der PCR-Reaktion und die Quantifizierung der Ausgangs-DNA - Menge zu nutzen. Dieser Apparat bestimmt während dem Ablauf einer PCR-Reaktion "online" mittels kleiner Mikroelektroden, die in die PCR-Lösung eintauchen, die Leitfähigkeitsänderungen. Aufgrund dieses Parameters ist der Apparat in der Lage die DNA bzw. RNA-Menge vor Ablauf der PCR-Reaktion zu errechnen.

Beschreibung:KONDUKTIVITÄTS-PCR (Leitfähigkeits PCR)

Eine in der **Molekularbiologie** wichtige Fragestellung ist die nach der Aktivität einzelner Gene. Um einzelne Gene in ihrer Aktivität zu bestimmen wird häufig eine PCR (Polymerasekettenreaktion) oder eine RT-PCR (reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion) durchgeführt. Eine Schwierigkeit besteht darin, daß die PCR-Reaktion nur schwierig quantifizierbar ist, daß heißt die Menge an DNA/RNA vor Ablauf der PCR-Reaktion läßt sich nur abschätzen.

Bisher übliche Apparate zur „online“ PCR färben entweder die im Verlauf der PCR gebildete DNA oder verwenden floreszenzmarkierte Oligonucleotidprimer um den Verlauf der PCR zu quantifizieren. Dabei ist ein aufwendiges optisches System zur Messung der jeweiligen Fluoreszenzen nötig.

Dieser Erfindung liegt die Überlegung zugrunde die bei Ablauf der PCR-Reaktion entstehende Menge an Phosphat und die damit verbundene Leitfähigkeitsänderungen als Marker für den Verstärkungsfaktor der PCR-Reaktion zu nutzen. Dieser Apparat bestimmt während dem Ablauf einer PCR-Reaktion „online“ mittels kleiner Mikroelektroden, die in die PCR-Lösung eintauchen, den Phosphatanstieg. Aufgrund dieses Parameters ist der Apparat in der Lage die DNA bzw. RNA- Menge vor Ablauf der PCR-Reaktion zu errechnen.

Die Phosphatmenge wird dabei aufgrund ihrer guten spezifischen elektrischen Leitfähigkeit und aufgrund ihres Anstiegs im Verlauf der Annealing und Extension- phase der PCR als Marker zur Detektion gewählt. Anhand einer zuvor ermittelten Eichkurve und der bestimmten Meßwerte kann anschließend ein Mikroprozessor die Phosphatkonzentration nach Ablauf der PCR-Reaktion, den Verstärkungsfaktor der PCR-Reaktion sowie die DNA- bzw. die RNA-Konzentration vor Beginn der PCR- Reaktion errechnen. Dabei eignet sich der zeitliche Verlauf des Leitfähigkeitsanstiegs als Funktion der Zyklenzahl und der Temperatur zur Ermittlung der Ursprungskonzentration an DNA.

Vorteilhaft an dieser Erfindung ist, daß mit der Leitfähigkeit direkt ein elektronisch verwertbares Maß verwendet wird. Zudem ist die Phosphatmenge ein besonders empfindlicher Parameter. Die Leitfähigkeit ändert sich dabei innerhalb eines jeden Zyklus temperaturabhängig entsprechend den drei Phasen (Annealing, Extension, Denaturierung). Insgesamt nimmt die Leitfähigkeit dabei im Verlauf der PCR ab. In der Annealingphase nimmt die Leitfähigkeit relativ stark ab. In den ersten circa zehn Zyklen steigt die Leitfähigkeit linear („lineare Phase“) bis zum „Trashhold Zyklus“. Dieser Zyklus eignet sich in besonderer Weise zur Quantifizierung der Polymerasekettenreaktion. Ab dem Trashhold Zyklus beginnt die exponentielle Phase. Diese ist durch eine summarische Leitfähigkeitsabnahme gekennzeichnet. Dennoch bleibt auch hier während der Denaturierungsphase und der Extensionsphase eine phasenweise Leitfähigkeitszunahme erhalten. Die Leitfähigkeitsänderungen der einzelnen Phasen eignen sich ebenfalls zur PCR- Quantifizierung.

Möglicherverweise binden bei der Annealingtemperatur viele Mononucleotide und viele Magnesiumionen sowie andere Ionen an die DNA. Mit Beginn der Extensionsphase steigt die Leitfähigkeit kontinuierlich bis zum Ende der Extensionsphase an. Dieser Anstieg wird vermutlich durch die Phosphatfreisetzung bewirkt. Und muß gemessen werden. An die Elongationsphase schließt sich die Denaturierung an, hier steigt die Leitfähigkeit auf ein Maximum. Vermutlich dissoziieren in dieser Phase alle Ionen ab.

Erläuterung anhand eines Ausführungsbeispiels: Zeichnung

- 1) Thermocycler
- 2) PCR-Reaktionsgefäß
- 3) PCR-Reaktionslösung
- 4) Mikroelektroden zur Leitfähigkeitsmessung
- 5) Mikroprozessor zur Registrierung der Leitfähigkeitsmeßwerte
- 6) Kontakte

Konduktivitäts-PCRPatentansprücheUnabhängiger Hauptanspruch:

1.) Ein Apparat zur Durchführung einer PCR-Reaktion (Polymerasekettenreaktion) in einem sogenannten "Thermocycler",

dadurch gekennzeichnet,

daß dieser Apparat „online“ während dem Ablauf einer PCR-Reaktion mittels kleiner in die PCR-Lösung eintauchender Mikroelektroden die Änderung der elektrischen Leitfähigkeit der Lösung kontinuierlich oder diskontinuierlich (z.B. nur während der Annealing/Extension-phase oder nur während der ersten Zyklen) verfolgt.

Abhängige Nebenansprüche:

2.) Ein Thermocycler nach Schutzanspruch 1)

dadurch gekennzeichnet,

daß dieser Thermocycler den Übergang des linearen Leitfähigkeitsanstiegs zum ersten Leitfähigkeitsabfall als trash-hold cycle zur Quantifizierung nutzt.

3.) Reaktionsgefäße zur Durchführung einer Polymerasekettenreaktion,

dadurch gekennzeichnet,

daß Mikroelektroden in die verwendeten Reaktionsgefäße integriert sind.

4.) Eine Multi well Platte zur Durchführung einer Polymerasekettenreaktion,

dadurch gekennzeichnet,

daß Mikroelektroden in die einzelnen Wells der multi well Platte integriert sind.

5.) Ein Thermocycler nach Schutzanspruch 1-4,

zusätzlich dadurch gekennzeichnet,

daß neben der elektrischen Leitfähigkeit auch noch die aktuelle Temperatur in der Reaktionslösung gemessen wird, daß die verschiedenen bekannten Möglichkeiten zur Heizung / Kühlung (z.B. Luftheizung / Kühlung oder Peltierelemente) Anwendung finden und das Kontakte zur Verwendung der Reaktionsgefäße nach Schutzanspruch 3 und 4 vorhanden sind.

6.) Eine elektrische Apparatur,

dadurch gekennzeichnet,

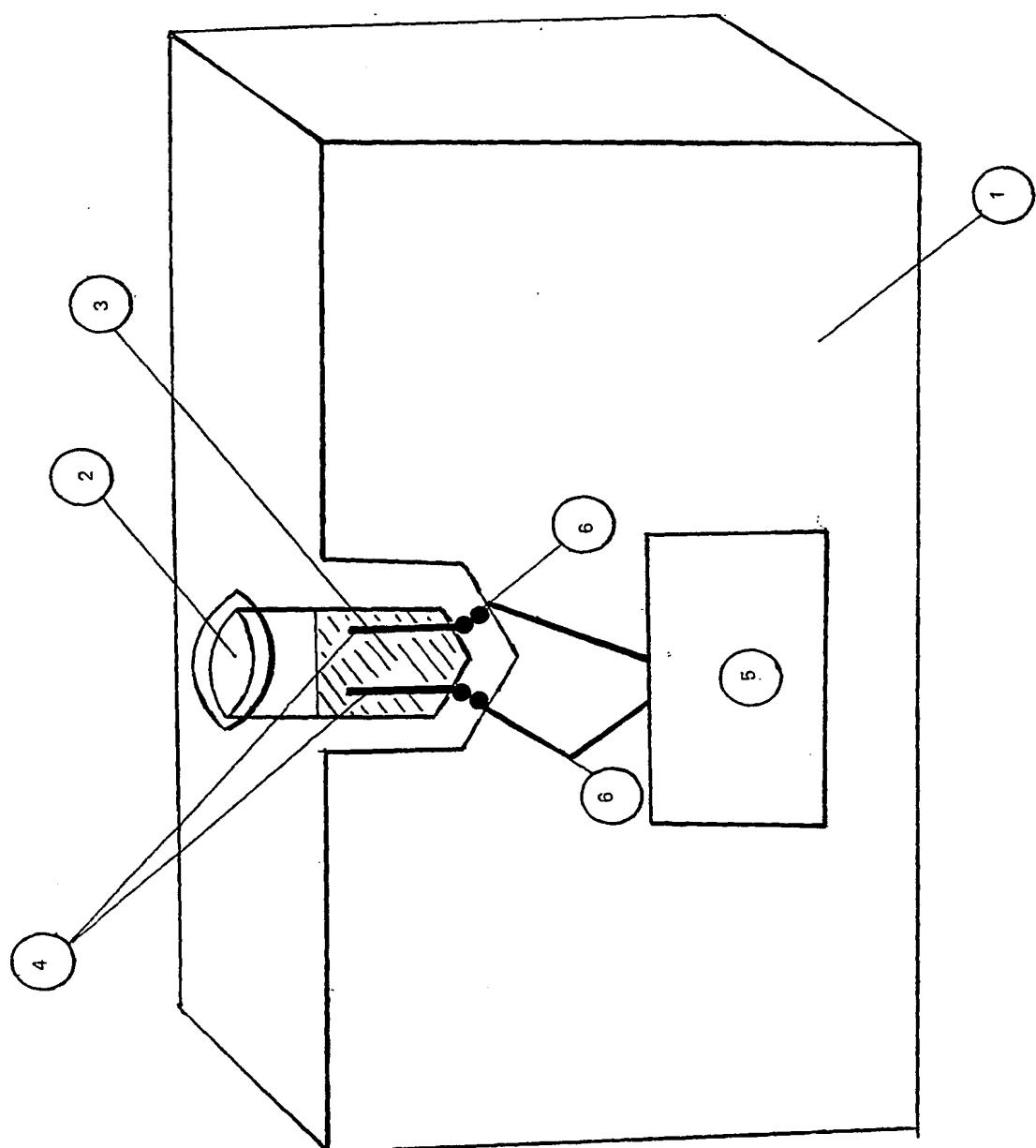
daß diese die im Verlauf der Polymerasekettenreaktion gemessenen Parameter (es sind dies die elektrische Leitfähigkeit, Temperatur, Zykluszahl und Zeit) registriert und sinnvoll verknüpft.

7.) Ein Thermocycler nach Schutzanspruch 1-4 mit der Möglichkeit zur abschließenden Schmelzkurvenanalyse,

zusätzlich dadurch gekennzeichnet,

daß während der Schmelzkurvenanalyse die elektrische Leitfähigkeit gemessen wird.

1/1



ERSATZBLATT (REGEL 26)

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. November 2001 (01.11.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/81619 A3

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ :	C12Q 1/68	200 18 005.3	22. Oktober 2000 (22.10.2000)	DE
(21) Internationales Aktenzeichen:	PCT/DE01/01025	100 60 256.8	4. Dezember 2000 (04.12.2000)	DE
(22) Internationales Anmeldedatum:	17. März 2001 (17.03.2001)			
(25) Einreichungssprache:	Deutsch			
(26) Veröffentlichungssprache:	Deutsch			
(30) Angaben zur Priorität:				
200 07 378.8	22. April 2000 (22.04.2000)	DE		
200 07 376.1	22. April 2000 (22.04.2000)	DE		
60/204.192	8. Mai 2000 (08.05.2000)	US		
60/219.421	20. Juli 2000 (20.07.2000)	US		
60/219.422	20. Juli 2000 (20.07.2000)	US		
200 13 567.8	8. August 2000 (08.08.2000)	DE		

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: ARNETH, Borros [DE/DE]; Mittelstedter Weg 37, 61348 Bad Homburg (DE). ARNETH, Alfons [DE/DE]; Mittelstedter Weg 37, 61348 Bad Homburg (DE).

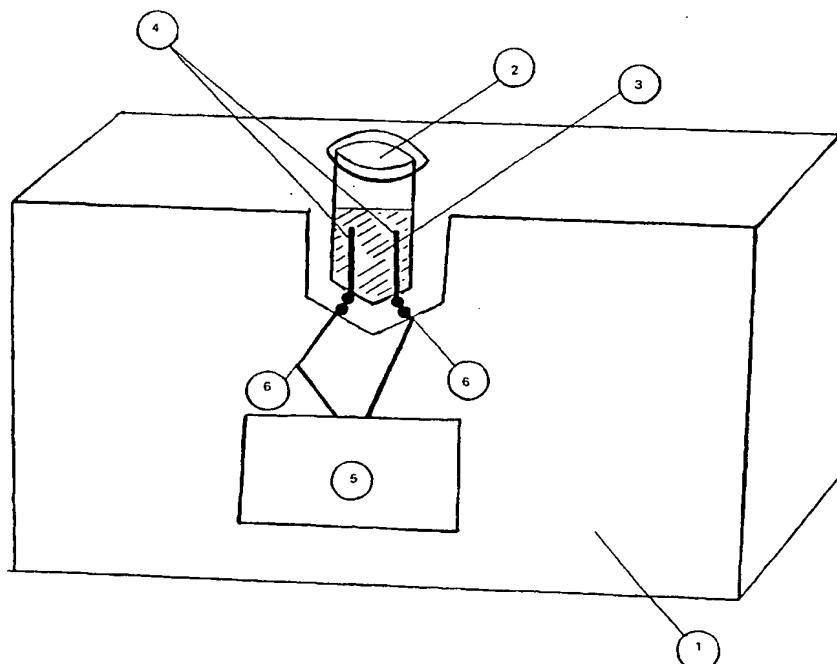
(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AT, AU, BR, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR, LT, LU, MA, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SE, TR, TT, TZ, US, VN, ZA.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: CONDUCTIVITY PCR

(54) Bezeichnung: KONDUKTIVITÄTS-PCR (LEITFÄHIGKEITS-PCR)



WO 01/81619 A3

(57) Abstract: The invention is based on the concept of using the change in conductivity to be measured during the PCR as a marker for the progression of the PCR and for the quantification of the starting quantity of DNA. This apparatus determines the changes in conductivity "online" during the course of a PCR by means of small microelectrodes (4) which are immersed in the PCR solution. Using this parameter, the apparatus is able to calculate the quantity of DNA or RNA before the conclusion of the PCR.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts:

16. Mai 2002

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) **Zusammenfassung:** Dieser Erfindung liegt die Überlegung zugrunde die bei Ablauf der PCR-Reaktion zu messende Leitfähigkeitsänderung als Marker für den Verlauf der PCR-Reaktion und die Quantifizierung der Ausgangs-DNA - Menge zu nutzen. Dieser Apparat bestimmt während dem Ablauf einer PCR-Reaktion "online" mittels kleiner Mikroelektroden (4), die in die PCR-Lösung eintauchen, die Leitfähigkeitsänderungen. Aufgrund dieses Parameters ist der Apparat in der Lage die DNA bzw. RNA-Menge vor Ablauf der PCR-Reaktion zu errechnen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 01/01025

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 99 10530 A (CLARKSON JOHN MICHAEL ; COBB BENJAMIN DAVID (GB); MOLECULAR SENSORS) 4 March 1999 (1999-03-04) page 9, paragraph 2 ---	1
Y	EP 0 488 769 A (PERKIN ELMER CETUS INSTR) 3 June 1992 (1992-06-03) abstract ---	1
A	US 5 891 639 A (HARLEY CALVIN BRUCE ET AL) 6 April 1999 (1999-04-06) column 22, line 5 - line 54 ---	3, 4

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 February 2002

Date of mailing of the international search report

07/03/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Duchatellier, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. National Application No

PCT/DE 01/01025

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	J. P. SCHONFIELD: "a rapid semi-automated microtiter plate method for analysis and sequencing by PCR from bacterial stocks" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 17, no. 22, 1989, page 9498 XP001053732 the whole document -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

...formation on patent family members

Inte	ninal Application No
PCT/DE 01/01025	

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9910530	A 04-03-1999	CN	1267336 T	20-09-2000
		EP	0990050 A1	05-04-2000
		WO	9910530 A1	04-03-1999
		JP	2001514376 T	11-09-2001
EP 0488769	A 03-06-1992	AT	165621 T	15-05-1998
		AU	696482 B2	10-09-1998
		AU	2493495 A	07-12-1995
		AU	662494 B2	07-09-1995
		AU	8832791 A	04-06-1992
		AU	9700298 A	04-03-1999
		CA	2056743 A1	30-05-1992
		DE	69129325 D1	04-06-1998
		DE	69129325 T2	10-09-1998
		DE	488769 T1	17-12-1992
		DE	812621 T1	13-08-1998
		DE	810030 T1	24-09-1998
		DK	488769 T3	07-10-1998
		EP	1157744 A1	28-11-2001
		EP	0488769 A2	03-06-1992
		EP	0812621 A1	17-12-1997
		EP	0810030 A1	03-12-1997
		ES	2033640 T1	01-04-1993
		GR	92300125 T1	16-03-1993
		IE	914170 A1	03-06-1992
		IL	100209 A	15-03-1995
		IL	111091 A	31-12-1995
		IL	111092 A	18-06-1996
		JP	6233670 A	23-08-1994
		KR	236506 B1	15-01-2000
		NZ	240800 A	26-10-1995
		NZ	270628 A	26-10-1995
		NZ	270629 A	26-10-1995
		US	5282543 A	01-02-1994
		US	5710381 A	20-01-1998
		US	6015534 A	18-01-2000
		US	5602756 A	11-02-1997
		US	5475610 A	12-12-1995
US 5891639	A 06-04-1999	US	5863726 A	26-01-1999
		US	5837453 A	17-11-1998
		US	5629154 A	13-05-1997
		US	5989807 A	23-11-1999
		US	5830644 A	03-11-1998
		US	5645986 A	08-07-1997
		AU	6380896 A	15-05-1997
		JP	11507839 T	13-07-1999
		WO	9715687 A1	01-05-1997
		US	5804380 A	08-09-1998
		AT	193554 T	15-06-2000
		AU	682082 B2	18-09-1997
		AU	1209095 A	29-05-1995
		AU	6058298 A	04-06-1998
		CA	2173872 A1	18-05-1995
		DE	69424797 D1	06-07-2000
		DE	69424797 T2	28-12-2000
		DK	728207 T3	02-10-2000
		EP	0728207 A1	28-08-1996

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 01/01025

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5891639	A	ES 2147602 T3	16-09-2000
		GR 3034249 T3	29-12-2000
		JP 11243998 A	14-09-1999
		JP 2875394 B2	31-03-1999
		JP 9502102 T	04-03-1997
		PT 728207 T	30-11-2000
		WO 9513381 A1	18-05-1995
		US 5648215 A	15-07-1997
		US 5639613 A	17-06-1997
		US 5693474 A	02-12-1997
		AU 1178195 A	29-05-1995
		AU 1330795 A	29-05-1995
		WO 9513382 A1	18-05-1995
		US 5686306 A	11-11-1997
		WO 9513383 A1	18-05-1995

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/01025

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 99 10530 A (CLARKSON JOHN MICHAEL ; COBB BENJAMIN DAVID (GB); MOLECULAR SENSORS) 4. März 1999 (1999-03-04) Seite 9, Absatz 2 ---	1
Y	EP 0 488 769 A (PERKIN ELMER CETUS INSTR) 3. Juni 1992 (1992-06-03) Zusammenfassung ---	1
A	US 5 891 639 A (HARLEY CALVIN BRUCE ET AL) 6. April 1999 (1999-04-06) Spalte 22, Zeile 5 - Zeile 54 ---	3, 4

 Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldeatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweitlhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldeatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
19. Februar 2002	07/03/2002
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Duchatellier, M

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 01/01025

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	J. P. SCHONFIELD: "a rapid semi-automated microtiter plate method for analysis and sequencing by PCR from bacterial stocks" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, Bd. 17, Nr. 22, 1989, Seite 9498 XP001053732 das ganze Dokument -----	1

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/01025

im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9910530	A 04-03-1999	CN 1267336 T EP 0990050 A1 WO 9910530 A1 JP 2001514376 T	20-09-2000 05-04-2000 04-03-1999 11-09-2001
EP 0488769	A 03-06-1992	AT 165621 T AU 696482 B2 AU 2493495 A AU 662494 B2 AU 8832791 A AU 9700298 A CA 2056743 A1 DE 69129325 D1 DE 69129325 T2 DE 488769 T1 DE 812621 T1 DE 810030 T1 DK 488769 T3 EP 1157744 A1 EP 0488769 A2 EP 0812621 A1 EP 0810030 A1 ES 2033640 T1 GR 92300125 T1 IE 914170 A1 IL 100209 A IL 111091 A IL 111092 A JP 6233670 A KR 236506 B1 NZ 240800 A NZ 270628 A NZ 270629 A US 5282543 A US 5710381 A US 6015534 A US 5602756 A US 5475610 A	15-05-1998 10-09-1998 07-12-1995 07-09-1995 04-06-1992 04-03-1999 30-05-1992 04-06-1998 10-09-1998 17-12-1992 13-08-1998 24-09-1998 07-10-1998 28-11-2001 03-06-1992 17-12-1997 03-12-1997 01-04-1993 16-03-1993 03-06-1992 15-03-1995 31-12-1995 18-06-1996 23-08-1994 15-01-2000 26-10-1995 26-10-1995 26-10-1995 01-02-1994 20-01-1998 18-01-2000 11-02-1997 12-12-1995
US 5891639	A 06-04-1999	US 5863726 A US 5837453 A US 5629154 A US 5989807 A US 5830644 A US 5645986 A AU 6380896 A JP 11507839 T WO 9715687 A1 US 5804380 A AT 193554 T AU 682082 B2 AU 1209095 A AU 6058298 A CA 2173872 A1 DE 69424797 D1 DE 69424797 T2 DK 728207 T3 EP 0728207 A1	26-01-1999 17-11-1998 13-05-1997 23-11-1999 03-11-1998 08-07-1997 15-05-1997 13-07-1999 01-05-1997 08-09-1998 15-06-2000 18-09-1997 29-05-1995 04-06-1998 18-05-1995 06-07-2000 28-12-2000 02-10-2000 28-08-1996

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/01025

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5891639	A	ES 2147602 T3	16-09-2000
		GR 3034249 T3	29-12-2000
		JP 11243998 A	14-09-1999
		JP 2875394 B2	31-03-1999
		JP 9502102 T	04-03-1997
		PT 728207 T	30-11-2000
		WO 9513381 A1	18-05-1995
		US 5648215 A	15-07-1997
		US 5639613 A	17-06-1997
		US 5693474 A	02-12-1997
		AU 1178195 A	29-05-1995
		AU 1330795 A	29-05-1995
		WO 9513382 A1	18-05-1995
		US 5686306 A	11-11-1997
		WO 9513383 A1	18-05-1995

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

BERICHTIGTE FASSUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. November 2001 (01.11.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/81619 A3

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ :	C12Q 1/68	60/219.421	20. Juli 2000 (20.07.2000)	US
		60/219 422	20. Juli 2000 (20.07.2000)	US
(21) Internationales Aktenzeichen:	PCT/DE01/01025	200 13 567.8	8. August 2000 (08.08.2000)	DE
		200 18 005.3	22. Oktober 2000 (22.10.2000)	DE
(22) Internationales Anmeldedatum:	17. März 2001 (17.03.2001)	100 60 256.8	4. Dezember 2000 (04.12.2000)	DE
(25) Einreichungssprache:	Deutsch			
(26) Veröffentlichungssprache:	Deutsch			
(30) Angaben zur Priorität:				
200 07 378.8	22. April 2000 (22.04.2000)	DE		
200 07 376.1	22. April 2000 (22.04.2000)	DE		
60/204.192	8. Mai 2000 (08.05.2000)	US		

(71) Anmelder und

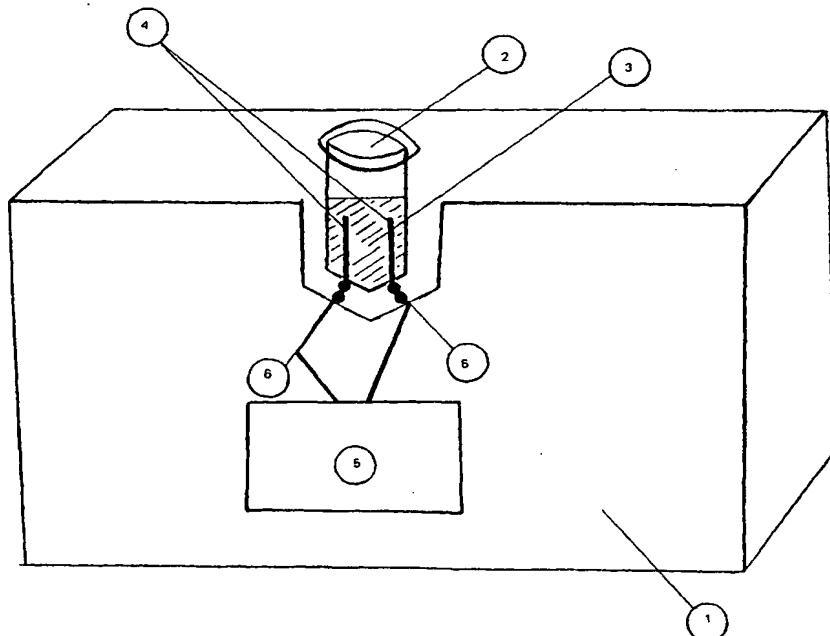
(72) Erfinder: ARNETH, Borros [DE/DE]; Mittelstedter Weg 37, 61348 Bad Homburg (DE). ARNETH, Alfons [DE/DE]; Mittelstedter Weg 37, 61348 Bad Homburg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AT, AU, BR, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR, LT, LU, MA, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SE, TR, TT, TZ, US, VN, ZA.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: CONDUCTIVITY PCR

(54) Bezeichnung: KONDUKTIVITÄTS-PCR (LEITFÄHIGKEITS-PCR)



WO 01/81619 A3

(57) Abstract: The invention is based on the concept of using the change in conductivity to be measured during the PCR as a marker for the progression of the PCR and for the quantification of the starting quantity of DNA. This apparatus determines the changes in conductivity "online" during the course of a PCR by means of small microelectrodes (4) which are immersed in the PCR solution. Using this parameter, the apparatus is able to calculate the quantity of DNA or RNA before the conclusion of the PCR.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) **Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:**

16. Mai 2002

(48) **Datum der Veröffentlichung dieser berichtigten Fassung:**

13. Juni 2002

(15) **Informationen zur Berichtigung:**

siehe PCT Gazette Nr. 24/2002 vom 13. Juni 2002, Section II

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) **Zusammenfassung:** Dieser Erfindung liegt die Überlegung zugrunde die bei Ablauf der PCR-Reaktion zu messende Leitfähigkeitsänderung als Marker für den Verlauf der PCR-Reaktion und die Quantifizierung der Ausgangs-DNA - Menge zu nutzen. Dieser Apparat bestimmt während dem Ablauf einer PCR-Reaktion "online" mittels kleiner Mikroelektroden (4), die in die PCR-Lösung eintauchen, die Leitfähigkeitsänderungen. Aufgrund dieses Parameters ist der Apparat in der Lage die DNA bzw. RNA-Menge vor Ablauf der PCR-Reaktion zu errechnen.